
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

First Semester Examination
2014/2015 Academic Session

December 2014 / January 2015

BTT 202/3 – Techniques in Biotechnology
[Teknik-Teknik Bioteknologi]

Duration: 3 hours
[Masa : 3 jam]

Please ensure that this examination paper contains NINE printed pages before you begin the examination.

[Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi SEMBILAN muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.]

Instructions: Answer **FIVE** (5) out of **SIX** (6) questions, in English or Bahasa Malaysia. Each question carries 20 marks.

Arahan: Jawab **LIMA** (5) daripada **ENAM** (6) soalan yang diberikan dalam Bahasa Inggeris atau Bahasa Malaysia. Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.]

In the event of any discrepancies, the English version shall be used.

[Sekiranya terdapat sebarang percanggahan pada soalan peperiksaan, versi Bahasa Inggeris hendaklah diguna pakai].

1. [a] An organism believed to be from the planet Mars has been successfully isolated. Its genomic DNA was found to be similar to earth's eukaryotic organism but its mRNA has a poly-G tail at its 3' end. Describe in detail how you would construct a cDNA library from this organism.

[Satu organisma unik yang dipercayai berasal dari planet Marikh telah berjaya dipencil. DNA genomnya didapati sama seperti organisma eukariot bumi tetapi mRNAnya didapati mempunyai ekor poli-G dibahagian hujung 3'. Terangkan langkah terperinci bagaimana anda boleh membina perpustakaan cDNA daripada organisma ini.]

(12 marks / 12 markah)

- [b] You had cloned the cDNA gene for beta-galactosidase from the organism above and it has an optimum temperature of 98°C. Describe the necessary steps needed to enable you to highly express this cDNA gene and obtain a maximum amount of the enzyme.

[Anda telah berjaya mengklon gen cDNA beta galaktosidase daripada organisma di atas dan ia mempunyai suhu optimum 98°C. Terangkan langkah yang perlu diambil supaya anda boleh mengekspresikan gen cDNA dengan tinggi dan dapat jumlah enzim yang maksimum.]

(8 marks / 8 markah)

2. Describe the reaction(s) performed by the following proteins and their applications in molecular biological experiments :

[Terangkan tindakbalas yang dilakukan oleh protein berikut serta kegunaannya dalam eksperimen biologi molekul :]

- [a] Klenow fragment
[Serpihan Klenow]
- [b] S1 nuclease
[S1 nuclease]
- [c] RNaseH
[RNaseH]
- [d] Reverse transcriptase
[Transkriptase berbalik]
- [e] T4 DNA ligase
[T4 DNA ligase]

(20 marks / 20 markah)

- 4 -

3. You have isolated a gene fragment from the genome of a microorganism. The fragment contains an open reading frame (ORF). The sequencing result shows the DNA sequence of the fragment as below :

[Anda telah pencirikan satu serpihan gen daripada genom satu mikroorganisma. Serpihan tersebut mengandungi satu 'open reading frame' (ORF). Keputusan jujukan DNA fragmen tersebut adalah seperti di bawah :]

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
AGAAATAAGACATTGACGCATCCCGCCCGGCTAACTATGAATTAGTAGAAGTAAATTTATTAAATAGTTGTAAACAGGAGTTTCATTA
      100      110      120      130      140      150      160      170      180
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CAATTTATATATTTAAAGAGGCGAATGATTATGACTGAAATCGTTGCAGATAAAACGGTAGAAGTAGTTAAAAACGCAATCGAAACCGCA
      190      200      210      220      230      240      250      260      270
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GATGGAGCATTAGATCTTTATAATAAATATCTCGATCAGGTTCATCCCTGGCAGACCTTTGATGAAACCATAAAGAGTTAAGTCGCTTT
      280      290      300      310      320      330      340      350      360
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
AAACAGGAGTATTACAGGCAGCCTCCGTTTGTAGTCGGCGATATTAAAACTTACTTATGGATAGCCAGGATAAGTATTTTGAAGCAACC
      370      380      390      400      410      420      430      440      450
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CAAAACAGTGATGAATGGTGTGGTGTTCGACGCAATTGCTCGCAGCGTATATTTTGTCTATTTGATGAGTACAATGAGAAGAAAGCATCC
      460      470      480      490      500      510      520      530      540
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GCCCAGAAAGACATTCTCATTAGGTACTGGATGACGGCATCACGAAGCTGAATGAAGCGCAAAATCCCTGCTGGTAAAGCTCAAAAGT
      550      560      570      580      590      600      610      620      630
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
TTCAACACCGCTTCCGGGAAAGCTGCTGGCGTTAGATAGCCAGTTAACCAATGATTTTTCAGAAAAAGCAGCTATTTCCAGTACAGGTA
      640      650      660      670      680      690      700      710      720
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GATAAAATCAGGAAGGAAGCATATGCCGTTGCCGAGCCGGTGTCTGCGCCGGTCCATTTGGATTAAATCATTTCTATTCTATTGCTGCG
      730      740      750      760      770      780      790      800      810
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GGCGTAGTTGAAGGAAACGTGATTCCAGAAATGAAGAACAAAGTTAAATCTGTGCAGAAATTTCTTACCACCCTGTCTAACACGGTTAA
      820      830      840      850      860      870      880      890      900
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CAAGCGAATAAAGATATCGATGCCGCCAAATTTGAAATTAACCCGAAATAGCCGCCATCGGTGAGATAAAACGGAAACTGAAACCAACC
      910      920      930      940      950      960      970      980      990
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
AGATTCTACGTTGATTATGATGATTTAATGCTTTCCTTGTCTAAAGAAGCGGCCAAAAAATGATTAAACACCTGTAATGAGTATCAGAAA
      1000      1010      1020      1030      1040      1050      1060      1070      1080
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
AGACACGGTAAAAAGACACTCTTTGAGGTACCTGAAGTCTGATAAGCGATTATTTCTCTCCATGTACTCAGGTATAAGGTTTATCACATT

```

- 5 -

You have used an ORF prediction software and the results show that an ORF is located from positions 121 to 1032.

[Anda telah menggunakan satu perisian ramalan ORF dan keputusannya menunjukkan satu ORF terletak pada posisi 122 sehingga 1032.]

- [a] Underline the start codon and the termination codon in the sequence above.

[Gariskan kodon pemula dan kodon penamat pada jujukan DNA di atas.]

(2 marks / 2 markah)

- [b] Using the sequence above, explain how you can determine the identity of the ORF ?

[Menggunakan jujukan di atas, terangkan bagaimana anda boleh tentukan identiti ORF tersebut ?]

(8 marks / 8 markah)

- [c] Design the forward and reverse polymerase chain reaction (PCR) primers of 15 nucleotides length each to amplify the predicted ORF in the sequence above.

[Reka primer ke depan dan ke belakang tindakbalas rantai polimerase (PCR) sepanjang 15 nukelotida untuk menghasilkan ORF daripada jujukan DNA di atas.]

Forward primer: 5' – 3'															
<i>[Primer ke depan: 5' – 3']</i>															
Reverse primer: 5' – 3'															
<i>[Primer ke belakang: 5' – 3']</i>															

(4 marks / 4 markah)

- [d] Using the DNA sequence of the fragment above, list **THREE** (3) other analysis (apart from ORF prediction) that can be performed using online bioinformatics tools. Describe briefly each of the analysis.

*[Dengan menggunakan jujukan DNA di atas, senaraikan **TIGA** (3) jenis analisis (selain daripada 'ORF prediction') yang boleh dilakukan dengan perisian bioinformatik atas talian. Huraikan secara ringkas setiap analisis.]*

(6 marks / 6 markah)

4. You have decided to express an unknown protein using recombinant protein technology.

[Anda telah memutuskan untuk mengekspresi satu protein yang tidak diketahui dengan menggunakan teknologi protein rekombinan.]

- [a] List the organisms that can be used as hosts to express the protein.

[Senaraikan organisma yang boleh digunakan sebagai hos untuk mengekspresi protein tersebut.]

(4 marks / 4 markah)

- [b] Describe a tagging strategy to express and purify the target protein.

[Terangkan satu strategi penandaan untuk mengekspresi dan memencilkan protein tersebut.]

(6 marks / 6 markah)

- 7 -

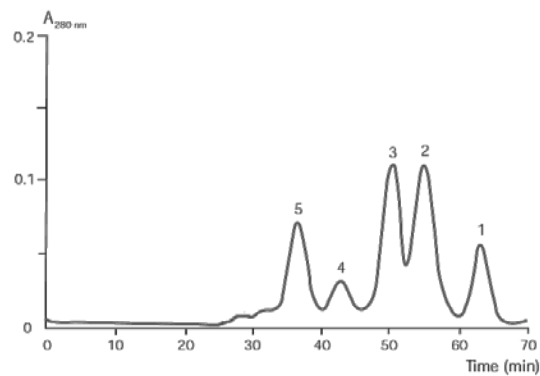
- [c] After purification of your protein, you passed it through an analytical gel filtration column which you first calibrated using protein standards.

[Selepas penulenan protein anda, anda mengalirkannya melalui turus penapisan gel analitikal yang telah ditentukan dengan protein piawai.]

	Protein Standards <i>[Protein Piawai]</i>	Molecular Weight (kDa) <i>[Berat Molekul (kDa)]</i>
1.	Myoglobin	17
2.	Ovalbumin	43
3.	Albumin	67
4.	IgG	158
5.	Ferritin	440

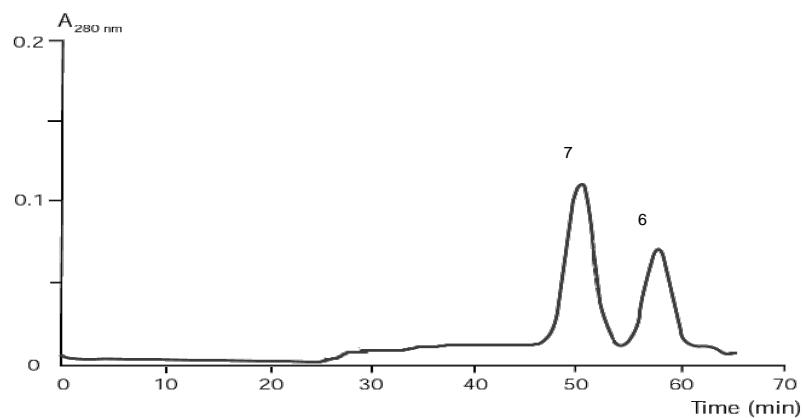
Chromatogram of protein standards.

[Kromatogram protein piawai.]



Chromatogram of your protein sample.

[Kromatogram sampel protein anda.]



- 8 -

Use the chromatograms and table of the protein standards above to estimate the molecular weights of peaks 6 and 7.

[Gunakan kromatogram tersebut dan jadual protein piawai di atas untuk menganggar berat molekul puncak 6 dan 7.]

Peak 6: _____

[Puncak 6: _____]

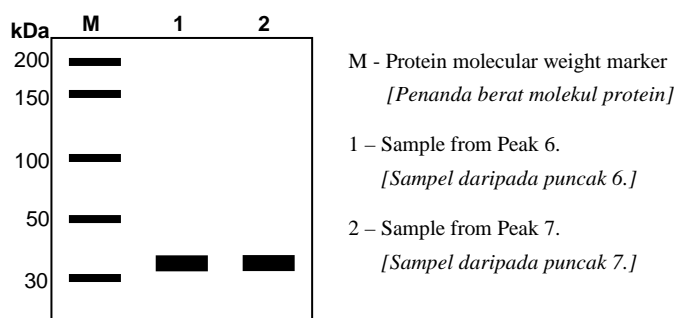
Peak 7: _____

[Puncak 7: _____]

(4 marks / 4 markah)

- [d] You have analyzed a sample from the fractions representing peaks 6 and 7 by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The results are as below :

[Anda telah menganalisa sampel daripada 'fraction' untuk puncak 6 dan 7 menggunakan elektroforesis gel SDS-poliakrilimida. Keputusannya seperti berikut: :]



What can you conclude about your protein based on the chromatogram and SDS-PAGE results ?

[Apa yang boleh anda simpulkan tentang protein anda daripada keputusan SDS-PAGE dan kromatogram di atas ?]

(6 marks / 6 markah)

5. Discuss and differentiate between **FIVE** (5) types of fermenters that regularly used in bioprocess operation.

*[Bincangkan dan bezakan **LIMA** (5) jenis fermenter yang digunakan dalam operasi bioproses.]*

(20 marks / 20 markah)

6. Discuss the **FOUR** (4) required in upstream process prior to the products formation in bioreactor.

*[Bincangkan **EMPAT** (4) langkah yang diperlukan dalam proses huluan sebelum penghasilan produk dalam bioreaktor.]*

(20 marks / 20 markah)